

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN METABOLISMUS VON
 ^{14}C -PROGESTERON UND ^3H -TESTOSTERON IM MENSCHLICHEN
PROSTATAADENOM

ALBERT A. KLEIN

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554413_0074

Aus der Urologischen Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. R. Hohenfellner)

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN METABOLISMUS VON
 ^{14}C -PROGESTERON UND ^3H -TESTOSTERON IM MENSCHLICHEN
PROSTATAADENOM



Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,

den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

ALBERT A. KLEIN

aus Aschbach

MAINZ 1975

Fachbereichsdekan:	Professor Dr. H. Langendorf
Referent:	Professor Dr. F. Orestano
Korreferent:	Professor Dr. R. Hohenfellner
Tag der mündlichen Prüfung:	18. Juni 1975



Gesamtherstellung



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN

AM KAPELLCHEN 1 · RUF 0 6132/5711

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATURÜBERSICHT	2
1. Androgenabhängigkeit der Prostata und Plasma-Androgene	2
2. Die Prostata als androgenes Zielorgan	3
a) Androgenaufnahme	3
b) Androgenmetabolisierung	4
c) Enzymsausstattung und Enzymaktivität	5
d) Androgeneffektivität und Androgenrezeptoren	6
3. Beeinflussung von Organstrukturen und der Androgenaktion in der Prostata durch nichtandrogene Hormone	7
4. Progesteronmetabolisierung durch menschliches Prostataadenomgewebe	9
C. ARBEITSHYPOTHESE	10
D. MATERIAL UND METHODE	11
1. Gewebe	11
2. Radioaktive Hormone	11
3. Versuchsansatz	11
4. Versuchsreihen	12
5. Methode	12
a) Inkubation	12
b) Gewebeertrümmerung	13
c) Extraktion und Filtration	13
d) Dünnschichtchromatographie	13
e) Darstellung und Identifizierung der Steroide	15
f) Radioaktivitätsmessung	15

	Seite
E. STATISTISCHES VERFAHREN UND ERGEBNISSE	18
1. Statistische Auswertung	18
2. Ergebnisse	18
a) Beeinflussung des Testosteronstoffwechsels durch Progesteron	18
b) Progesteronstoffwechsel	19
c) Metabolisierung des Progesterons und Hemmung der 5 alpha-Reduktase-Aktivität beim Testosteronabbau	20
Ergebnistabellen 3-6 (Testosteronmetaboliten)	21
Ergebnistabellen 7-10 (Progesteronmetaboliten)	24
F. DISKUSSION	30
G. ZUSAMMENFASSUNG	38
H. QUELLENVERZEICHNIS	39
Abbildungen	
Abb. 1	17
Abb. 2-4	27
Abb. 5-8	34

A. EINLEITUNG

Die adenomatöse Wucherung der Vorsteherdrüse, die benigne Prostatahypertrophie, stellt in der urologischen Praxis eine der häufigsten Erkrankungen des älteren Mannes dar. Nach dem 5. Lebensjahrzehnt kommt es bei mehr als der Hälfte aller Männer zu einer zweiten Wachstumsphase der Prostata (Swyer, 1944; Anderson, 1966), was in vielen Fällen eine mehr oder minder ausgeprägte Symptomatik für den Patienten zur Folge hat (Sökeland et al., 1968).

Im Jahre 1954 beschrieben Wotiz et al. den Stoffwechsel des Testosterons in der menschlichen Prostata. Zahlreiche Laboratorien und Forschungsgruppen haben sich inzwischen intensiv mit der enzymatischen Ausstattung und der daraus resultierenden Stoffwechselpotenz dieser Drüse beschäftigt. Dem Testosteronstoffwechsel wird bei der Frage nach der Ätiologie des Prostataadenoms von einigen Autoren eine bedeutende Rolle zugeschrieben. Dabei scheinen für die biochemische Effektivität des Testosterons und seiner Metaboliten zelluläre Rezeptoren der Prostata entscheidend wichtig zu sein (Liao et al., 1969). Es ist auch bekannt, daß die normale Struktur und Funktion des Organs eine intakte Hodenfunktion voraussetzen (Moore, 1947). Die Metabolisierung des Testosterons darf jedoch kaum als einziger induzierender Faktor der pathologischen Entwicklung der periurethralen Drüse des Mannes gelten.

Eine kausale Therapie der Erkrankung mit Aussicht auf Heilung ist derzeit noch nicht möglich. An ihrer Stelle steht noch immer eine medikamentöse (hormonelle und kontrasexuelle) Therapie mit symptomatischem Charakter, wenn eine operative Behandlung nicht in Erwägung gezogen wird.

B. LITERATURÜBERSICHT

1. Androgenabhängigkeit der Prostata und Plasma-Androgene

Die unter physiologischen Bedingungen überwiegende Androgenabhängigkeit der Prostata läßt sich durch Kastration beweisen, die eine Atrophie der Drüse bewirkt. Kastration verhindert auch die Entstehung einer benignen Prostatahypertrophie (BPH) beim Hund, die auch bei dieser Spezies jenseits des 8. Lebensjahres auftreten kann (Huggins, 1947).

Trotz dieser scheinbar eindeutigen und vorwiegenden Androgenempfindlichkeit der Drüse besitzt diese Organstrukturen, die sich durch eine ausgesprochene Östrogensensibilität auszeichnen, wie in einer Untersuchung an Foeten gezeigt werden konnte (Andrews, 1951). Besonders der Lobus medialis der Prostata ist hier zu nennen, der neben den periurethralen Drüsen als Ausgangsort der adenomatösen Hypertrophie beschrieben ist (Franks, 1954).

Nicht nur die wegen ihrer unterschiedlichen Histologie und Hormonsensibilität komplexen Verhältnisse in den verschiedenen Organbereichen erschweren Aussagen über die Induktion zu einer pathologischen Entwicklung der Prostata, auch die Verhältnisse im Blutplasma für die Androgene sind durch unterschiedliche Syntheseraten sowie Bindungen an Serumproteine nach entsprechenden Untersuchungen als kompliziert beschrieben (Mercier, 1966; Corvol et al., 1971; Vermeulen et al., 1971; van de Wiele et al., 1963). Die Konzentrationen der männlichen Sexualhormone und die Verteilung ihrer Metaboliten im Serum sagen auch nicht notwendigerweise etwas über die Situation in den peripheren Zielorganen aus (Becker et al., 1971).

Hauptproduktionsort des wichtigsten Androgens, des Testosterons, sind die Leydigischen Zwischenzellen des Hodens. Im Blutplasma ist Testosteron zum Großteil an ein Globulin der β -Fraktion gebunden und wird durch diese Eiweißbindung unwirksam (Vermeulen et al., 1971). Aus Testosteron und Androstendion werden pro Tag beim Mann 50 Mikrogramm Östrogene gebildet (Brenner et al., 1969).

Der Anteil des freien Plasmatestosterons ist bei über 50-jährigen Männern vermindert, in einem Lebensalter, in dem die BPH bereits häufig begonnen hat, sich zu entwickeln. Der Östrogenblutspiegel bei Adenomträgern ist dagegen erhöht (Vermeulen, 1973). Für eine gestörte Androgen-Östrogen-"Gleichgewichtslage" beim älteren Mann, die als pathogenetischer Faktor zu diskutieren wäre, sprechen auch die Ergebnisse von Kato et al. (1968).

Das Globulin, das für die Testosteronbindung verantwortlich ist, zeigt auf Östrogengabe eine Konzentrationserhöhung. Durch erhöhte Bindungskapazität des Blutes würde die freie Testosteronmenge absinken, was auch ein vermindertes Testosteronangebot für die Prostata zur Folge hätte (vgl. auch Bird et al., 1971).

2. Die Prostata als androgenes Zielorgan

a) Androgenaufnahme

Als Zielorgan männlicher Sexualhormone besitzt die Prostata die Fähigkeit, diese Steroide selektiv aufzunehmen.

³H-markiertes Testosteron und Dihydrotestosteron, die jungen, kastrierten Ratten injiziert wurden, fanden sich hauptsächlich in der Prostata wieder (Reisner et al., 1972 a; Reisner et al., 1972 b). Funktionell hepatektomierte Ratten nehmen bereits wenige Minuten nach i. v.-Gabe markiertes Testosteron in die Prostata auf (Bruchovsky et al., 1968 a). Andere Autoren sind zu den entsprechenden Resultaten gekommen (Tveter et al., 1969; Hansson, 1971).

Bezüglich der Hormonaktivität und -abhängigkeit der Hundeprostate (nach Moore, 1947, wie bereits oben erwähnt, auch bei dieser Spezies BPH) und der menschlichen Vorsteherdrüse scheinen offenbar Ähnlichkeiten zu bestehen. Gloyne et al. (1970) wiesen Dihydrotestosteron in der unreifen, reifen und hypertrophischen Prostata des Hundes als das mit dem höchsten Anteil vertretene Androgen nach.

5 alpha-Dihydrotestosteron wurde von Buric et al. (1972) in den androgenen Zielorganen der Ratte in höherer Konzentration als Testosteron aufgefunden. Im Skelettmuskel überwog dabei das Testosteron.

Nicht nur Ergebnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen bezeugen die Aufnahmefähigkeit für androgene Steroide, auch für die menschliche Prostata konnte dies an Patienten mit adenomatös veränderter Prostata gezeigt werden.

Wurden markiertes Testosteron und Dihydrotestosteron 30 Minuten vor der Prostatektomie i. v. gegeben, so war die aufgefundene Radioaktivität im Prostatagewebe weit höher als vergleichsweise im Muskelgewebe (Becker et al., 1972).

Jedoch nicht nur Testosteron und sein Reduktionsprodukt, Dihydrotestosteron, werden aufgenommen. Farnsworth (1971) beschrieb die Konzentrationen für Androstendion und Dehydroepiandrosteron im Plasma als wesentlich niedriger als diejenigen im Gewebe der hypophyse-

trophierten Prostata. Dabei galt die Fragestellung speziell der Anreicherung von Androgenen aus dem Serum.

Bei den beschriebenen Untersuchungsergebnissen ist jedoch auch an die ausgesprochene Metabolisierungsfähigkeit der Prostata gegenüber Androgenhormonen zu denken. Im folgenden seien einige wichtige Ergebnisse über den Stoffwechsel der männlichen Sexualhormone in ihrem Zielorgan, der Prostata, beschrieben.

b) Androgenmetabolisierung

Testosteron wird in der Rattenprostata einer schnellen Verstoffwechselung unterzogen (Wilson et al., 1969; Shimazaki et al., 1970; Buric et al., 1972).

Hauptmetaboliten des Testosterons sind 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol. Beim In-Vitro-Stoffwechsel wurden von Bruchovsky et al. (1968 a) auch Androstandion, Androstendion und polare Metaboliten ermittelt. In-Vivo-Untersuchungen der Autoren demonstrierten, daß im Zytoplasma der Prostatazellen neben Testosteron und Dihydrotestosteron auch Androstandiol und Androsteron auftraten, während in Zellkernfraktionen nur Testosteron und Dihydrotestosteron nachgewiesen wurden.

Bedeutend ist das Ergebnis, daß Dihydrotestosteron beim initialen Testosteronabbau in der Prostata ein obligates Intermediärprodukt vor dem Androstandiol ist (Fang et al., 1969 b; Baulieu et al., 1970; Wilson et al., 1970).

Einige weitere Untersuchungsergebnisse unterstützen die Theorie, daß Dihydrotestosteron eine herausragende Rolle bei der Androgenaktion in der Prostata spielt. Da es in den Zellkernfraktionen alleiniger Metabolit des Testosterons ist und die Kerne eine höhere Bindungskapazität für Dihydrotestosteron als für Testosteron besitzen, wird es als die stoffwechselaktive Form des Testosterons betrachtet (Bruchovsky et al., 1968 b).

Auch im Gewebe der hypertrophierten menschlichen Prostata ist 5 alpha-Dihydrotestosteron der Hauptmetabolit des Testosteronabbaus (Sitteri et al., 1970; Beckert et al., 1972). Überhaupt sind die 5 alpha-Abbauprodukte in der normalen und hypertrophierten Prostata quantitativ gegenüber den 5 beta-Metaboliten die wichtigeren (Giorgi et al., 1971).

Die Stoffwechselkonzentration des Prostatagewebes beschränkt sich aber nicht auf den reduktionsabbau von Testosteron. bei Inkubationen mit Gewebekulturen entstanden aus Androsteron Dihydrotestosteron und Androstandiol (Roy et al., 1972).

Über die Bedeutung anderer Metaboliten, die ebenfalls als End- oder Zwischenprodukte des Drüsenstoffwechsels gefunden wurden, ist noch wenig bekannt. Hierzu zählen beta-hydroxylierte Steroide (6 beta-OH-4-androsten-3, 17-dion, 2 beta-OH-4-androsten-3, 17-dion) und 17 alpha-Hydroxy-Metaboliten (Acevedo et al., 1964; Acevedo et al., 1965 b).

Schließlich ist eine, wenn auch geringfügige, Umwandlung von Nortestosteron in Östrogene beschrieben worden (Farnsworth, 1966).

c) Enzymausstattung und Enzymaktivität

Die Prostata verdankt ihre Fähigkeit, männliche (und weibliche) Sexualhormone zu metabolisieren, ihrer Enzymausstattung. Hier seien die wichtigsten Ergebnisse aus Untersuchungen über diese Biokatalysatoren des akkessorischen Sexualorgans zusammengefaßt.

Das Enzym, welches die Umwandlung von Testosteron zu Dihydrotestosteron bewirkt, ist eine Delta⁴-3-Keto-Steroid-5-alpha-Oxidoreduktase (Bruchovsky et al., 1968 a). Beim Substratumsatz ist sie obligat NADPH₂-abhängig (Chamberlain et al., 1966 b). Der Reduktionsschritt vom Testosteron zum 5 alpha-Dihydrotestosteron ist in Anwesenheit eines hohen NADP-Überschusses irreversibel (Wilson et al., 1970).

Nahezu die Hälfte der 5 alpha-Reduktase ist in den Nuclei lokalisiert, der übrige Anteil in einer zytoplasmatischen Fraktion, vermutlich dem Endoplasmatischen Retikulum.

Die Enzymaktivität ist hoch, das Optimum liegt bei 37°C (Bruchovsky et al., 1968 a).

Die Substratspezifität scheint wenig ausgeprägt zu sein, ist aber sicher vom chemischen Formelbau abhängig. Für 20-alpha-hydroxy-4-pregnen-3-on, Epitestosteron, 17-alpha-Hydroxyprogesteron und auch Progesteron ist sie sogar höher als für Testosteron selbst. Androstendion entspricht in der Substratwirkung etwa dem Testosteron (Frederiksen et al., 1971).

Zum Teil ist darin sicherlich eine Erklärung zu finden für den hemmenden Effekt, den einige der oben erwähnten Steroide auf den Reduktionsabbau des Testosterons ausüben, wenn sie gleichzeitig mit Testosteron und Prostatagewebe inkubiert werden.

Für die Konversion des 5 alpha-Dihydrotestosterons zu Andronstandiol ist eine 3 alpha-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase (3 keto-Reduktase) verantwortlich. Nach der 5 alpha-Reduktase besitzt sie die zweithöchste Aktivität. Das Enzym findet sich in den Mikrosomen und den Mitochondrien (Chamberlain et al., 1966 a;b). Eine ebenfalls im Zytosol lokalisierte 3 beta-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase besitzt eine geringere Aktivität.

Der Reaktionsschritt vom Testosteron zum Androstendion wird durch eine 17 beta-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase katalysiert. Die Reaktion ist reversibel, jedoch die Reduktionsrichtung bevorzugt (Chamberlain et al., 1966 a).

Andere Enzyme, eine 2 beta-Hydroxylase, eine 6 beta-Hydroxylase und eine 5 beta-Reduktase wurden nachgewiesen (Shimazaki et al., 1965 a; Aliapoulos et al., 1965). Gemessen an dem quantitativen Auftreten der entsprechenden Metaboliten, dürfte ihre Bedeutung gering sein.

d) Androgeneffektivität und Androgenrezeptoren

Vor allen anderen Androgenen scheint besonders der wichtigste Testosteronmetabolit, das Dihydrotestosteron, eine wachstumsinduzierende Wirkung auf die Prostata zu besitzen. So fanden Gloyna et al. (1969) bei verschiedenen Tierarten einen Zusammenhang zwischen Prostatagröße und der Produktionsrate von Dihydrotestosteron. Die Hundeprostate reagiert bei Dihydrotestosterongaben an die Tiere mit einem beschleunigten Wachstum (Gloyna et al., 1970).

In Prostatagewebekulturen stimuliert 5 alpha-Dihydrotestosteron in einem größeren Ausmaße die Zellproliferation als Testosteron.

Das zweite wichtige Testosteronabbauprodukt, Androstandiol, besitzt diese Wirkung nicht, hat jedoch einen die prostatistischen Epithelstrukturen erhaltenden Effekt (Baulieu et al., 1968; Lasnitzki, 1971; Robel et al., 1971).

Die RNA-Polymerase in Kernfraktionen von Ratten- und Hundeprostate steigert nach Zugabe von Dihydrotestosteron ihre Aktivität (Davies et al., 1972). Auch von Fujii et al. (1968) wurde diese RNA-Polymerase-Aktivierung bei Untersuchungen an unreifen Ratten gefunden.

Ob bei diesen Wirkungsmechanismen des Dihydrotestosterons von diesem eine Coenzymfunktion bei der intrazellulären Eiweißsynthese von Bedeutung ist oder ob der Testosteronmetabolit über eine Inaktivierung von Repressoren die Syntheseleistungen der Zelle erhöht, ist noch nicht geklärt (Talalay et al., 1960; Liao et al., 1969).

Neben der wachstums- und proliferationsstimulierenden Wirkung der beiden Androgene, Testosteron und Dihydrotestosteron, wurde auch ihre Fähigkeit beschrieben, den Zellstoffwechsel in androgenen Zielorganen zu steigern (Schmidt et al., 1972).

Trotz der im Tierexperiment und in Organkulturen nachgewiesenen Effektivität des Dihydrotestosterons bleibt es letztlich noch zu klären, ob beim Menschen ein Unter- oder ein Überangebot dieses Testosteronmetaboliten pathologische Konsequenzen hat (Wilson et al., 1970).

Die Befunde über die Aufnahme von Androgenen in die Prostata, ihre Metabolisierung und Effektivität in der Drüse wurden entscheidend durch den Nachweis zellulärer Rezeptoren für diese männlichen Sexualhormone gestützt.

Androgen-Rezeptor-Komplexe sind vielleicht überhaupt die aktiven Hormonformen am Ort der biologischen Wirksamkeit (Mangan et al., 1971).

Nach der Aufnahme in die Prostatazellen werden Testosteron und seine Metaboliten an zytoplasmatische und nukleäre Rezeptoren gebunden (Mainwaring, 1969 a, b; Unhjem et al., 1969; Fang et al., 1971; Aakvag et al., 1972). Dihydrotestosteron wird im Zellkern an ein Protein des Kernchromatins gebunden, und zwar hauptsächlich an solchen Stellen, wo die höchste RNA-Synthese ablaufen soll (Wilson et al., 1970).

Dihydrotestosteron scheint gegenüber Testosteron bei der Anlagerung an Rezeptoren bevorzugt zu sein. Bei der bindenden Kernsubstanz handelt es sich um ein saures Protein (Bruchovsky et al., 1968 b; Anderson et al., 1968).

Baulieu et al. (1970) fanden die Aktivität des in vitro inkubierten ^3H -Dihydrotestosterons an ein Eiweiß des 8-9 S-Bereichs assoziiert. Im Zytosol wurde von den gleichen Autoren ein Protein gefunden, welches den zweiten wichtigen Testosteronmetaboliten, das Androstandiol, anlagerte.

3. Beeinflussung von Organstrukturen und der Androgenaktion in der Prostata durch nichtandrogene Hormone

Verschiedene antiandrogene Substanzen bewirken eine Organatrophie der Drüse oder beeinflussen Androgeneffektivität und Enzymaktivitäten in der Prostata.

Beim Hund bewirken Östrogene eine Verkleinerung der acinösen und tubulären Strukturen im hypertrophierten Organ (Huggins et al., 1940). An Organkulturen konnte durch Östrogensatz eine Abnahme der Epithelhöhe und eine squamöse Metaplasie registriert werden (Lasnitzki, 1955, 1966). Von Anderson et al. (1972) wurden nach Gaben von Polyestradiolphosphat eine Gewichtsreduktion der ventralen Rattenprostata und eine Beeinflussung

von Esterasen und Peptidasen beschrieben.

Die östrogeninduzierte Prostatahypoplasie kann durch Androgene verhindert werden (Woodruff et al., 1960). Dies würde für jene Theorien sprechen, die besagen, daß möglicherweise in der Prostata ein Östrogen-Androgen-"Antagonismus" für den Erhalt einer normalen Organstruktur erforderlich ist.

Durch andere Studien wurde die Beeinflussung der Testosteronmetabolisierung untersucht. Die für den initialen Testosteronabbau maßgebende 5 alpha-Reduktase wurde in vitro durch synthetische, besonders aber durch natürliche Östrogene gehemmt (Shimazaki et al., 1971). Ist Östradiol-17 beta in hohen Konzentrationen anwesend, so unterdrückt dieses natürliche Östrogen den Testosteronabbau in einem höheren Ausmaß, als es bei Anwesenheit geringerer Konzentrationen der Fall ist (Shimazaki et al., 1965 b).

Andere Autoren verneinen eine Östrogenwirkung auf die Androgenverstoffwechselung in vivo (Tveter et al., 1969).

Neben den Östrogenwirkungen auf die Prostata seien hier einige wichtige Progesteroneffekte herausgestellt:

Das C₂₁-Steroid führt zu einer erheblichen Atrophie der akzessorischen Geschlechtsorgane. Nicht nur die Prostata, auch die Samenblasen atrophieren bei Progesterongaben, während eine gleichartige Wirkung auf die Testes minimal ist (Hahn et al., 1968).

Die Aufnahme von Testosteron in das Prostatagewebe wird durch Progesteron gehemmt (Tveter et al., 1969). In Gegenwart des Gestagens verringert sich die Bindungskapazität eines im Zytosol nachgewiesenen Proteins, welches Dihydrotestosteron zu binden vermag, um 60 % (Baulieu et al., 1970). Nach Geller et al. (1965) bewirkt Progesteron eine Abnahme der Epithelhöhe, eine Atrophie aller Lappen und eine Verkleinerung der adenomatösen menschlichen Prostata. Von Klosterhalfen (1966) werden diese Progesteroneffekte auf die hypertrophierte Prostata jedoch in Frage gestellt.

Bei Therapieversuchen des menschlichen Prostataadenoms und -carcinoms mit synthetischen Gestagenen konnten keine eindeutig guten Ergebnisse erzielt werden, obwohl die atrophisierende Wirkung von synthetischen Gestagenen, abgeleitet vom Hydroxy-progesteron, auf die normale Prostata im Tierexperiment bewiesen ist (Neumann et al., 1971).

Ein bedeutender Progesteroneffekt im Gewebe der hypertrophischen Prostata dürfte die Unterdrückung der Dihydrotestosteronbildung (Tveter et al., 1969; Orestano, 1972) im

Hinblick auf jene Theorien sein, die dem wichtigsten Testosteronmetaboliten eine pathogenetische Bedeutung bei der Entstehung des Prostataadenoms zuschreiben.

4. Progesteronmetabolisierung durch menschliches Prostataadenomgewebe

Bei einer Untersuchungsreihe mit transurethral entnommenen Gewebeships wurde eine geringgradige Verstoffwechselung von Progesteron durch Adenom- und Carcinomgewebe nachgewiesen (Acevedo et al., 1965). Die Autoren konnten drei aus ^{14}C -Progesteron entstandene Metaboliten identifizieren:

5 beta-hydroxy-4-pregnen-3, 20-dion, 20 alpha-hydroxy-4-pregnen-3-on, und 5 alpha-pregnan-3, 20-dion, das Allopregnandion.

C. ARBEITSHYPOTHESE

Durch die im folgenden Abschnitt beschriebenen Versuchsreihen mit menschlichem Prostataadenomgewebe sollte geprüft werden

- a) die Beeinflussung des initialen ^3H -Testosteronabbaus durch ^{14}C -Progesteron, das in verschiedenen Konzentrationen gleichzeitig mit ^3H -Testosteron inkubiert wurde,
- b) ob und in welchem Ausmaß dabei Progesteron durch Prostataadenomgewebe einer Metabolisierung unterworfen wurde.

D. MATERIAL UND METHODE

1. Gewebe

Das untersuchte Gewebe war 56-70jährigen Patienten durch suprapubische Prostatektomie entnommen worden. In allen Fällen war die Diagnose einer benignen Prostatahypertrophie histologisch gesichert. Keiner der Patienten war vor der Operation mit menschlichen Sexualhormonen oder deren Derivaten therapiert worden. Nach der operativen Entnahme der Prostataadenome wurden diese in einer eiskalten physiologischen Kochsalzlösung zur Verarbeitung gebracht.

Die labortechnischen Arbeitsbedingungen waren steril. Es wurden sechs Prostataadenome untersucht.

2. Radioaktive Hormone

Bei den Versuchsreihen wurde mit folgenden Substanzen gearbeitet:

a) Testosteron-7 alpha-³H (Radiochemical Center Amersham, spezifische Aktivität: 5000 mikro Ci pro mMol). Bei der Dünnschichtchromatographie mit Silica-Gel-Platten (Fa. Merck) ließ sich ein Reinheitsgrad von 95 % ermitteln (System: Hexan : Methanol : H₂O 5:4:1 v/v/v).

b) Progesteron-4-¹⁴C (Radiochem. Center Amersham, spezifische Aktivität: 61 000 mikro Ci pro mMol). Der Reinheitsgrad betrug 98 % (Dünnschichtchromatographie mit Silica-Gel-Platten im System Dichlormethan : Aceton 80:20 v/v).

Die markierten Hormone wurden beide in Äthanol absolut gelöst.

3. Versuchsansatz

Aus den knotigen Bereichen der Adenome wurde Gewebe ausgeschnitten und in Würfeln von jeweils 300 milligramm abgewogen. Die Gewebeblöcke wurden mit der Schere zerteilert und in Bechergläser mit je 2 ml einer physiologisch abgepufferten Krebs-Ringer-Phosphat-Lösung (pH 7,4) gegeben. Zuvor war das Lösungsmittel der radioaktiven Steroide in diesen Bechergläsern unter einem Preßluftstrom eingedampft worden. Ein Versuchsansatz enthielt somit die in 2 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Lösung gelösten Steroide und 300 mg Adenomgewebe.

4. Versuchsreihen

(Konzentrationen und versuchsspezifische Radioaktivität der inkubierten Hormone)

Bei jedem der sechs untersuchten Prostataadenome wurde mit einer Versuchsreihe gearbeitet, die aus den folgenden fünf Ansätzen bestand:

Nr.	Ansatz
-----	--------

- | | |
|------|---|
| I: | 1 mikro Ci Testosteron-7 α ^3H
Konzentration: $1,98 \cdot 10^{-7}$ Mol/l |
| II: | wie bei I.
+ 10^{-7} gramm Progesteron-4- ^{14}C ($\cong 0,0193$ mikro Ci)
Konzentration: $1,58 \cdot 10^{-7}$ Mol/l |
| III: | wie bei I.
+ 10^{-6} gramm Progesteron-4- ^{14}C ($\cong 0,193$ mikro Ci)
Konzentration: $1,58 \cdot 10^{-6}$ Mol/l |
| IV: | wie bei I.
+ 10^{-5} gramm Progesteron-4- ^{14}C ($\cong 1,93$ mikro Ci)
Konzentration: $1,58 \cdot 10^{-5}$ Mol/l |
| V: | 10^{-6} gramm Progesteron-4- ^{14}C ($\cong 0,193$ mikro Ci)
Konzentration: $1,58 \cdot 10^{-6}$ Mol/l
(Einzelsubstratinkubation mit Progesteron) |

5. Methode

a) Inkubation

Die Bechergläser mit den Versuchsansätzen wurden für zwei Stunden in einem Brutschrank (Fa. Heraeus, Typ KB 600/ CO_2) bei 37°C , 95 % O_2 und 5 % CO_2 inkubiert, wobei sie sich auf einer Schüttelmaschine (Fa. Koettermann, Typ 4010) befanden.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde das Inkubationsmedium mit automatischen Mikroliterpipetten (Fa. Eppendorf) vom Gewebe getrennt und in Schüttelbirnen gegeben. Das Abstoppen der Reaktionen erfolgte, indem sowohl zum Gewebe als auch zum Medium

3 ml einer Lösung aus Chloroform : Methanol 2:1 $v/v^{(1)}$ gegeben wurden.

Bis zur Weiterverarbeitung konnten die Proben bei -20°C im Tiefkühlschrank eingefroren und aufbewahrt werden.

b) Gewebezetrümmerung

Zur Gewebezetrümmerung wurde ein Ultra-Turrax (Ika-Werke, Typ 18-10) verwendet. Die Gewebeprobe wurde aufgetaut und unter Zugabe von 2 ml physiologischer NaCl 5 Minuten lang im Becherglas zetrümmerung.

Der entstandene Gewebepulver wurde in Schüttelbirnen umgefüllt und Becherglas und Gerät anschließend fünfmal mit Chl. : Meth. gespült. Nach jedem Spülgang wurde die Spülflüssigkeit dem Gewebepulver im Schüttelglas zugegeben, so daß das Volumen der Gewebepulver in einer Schüttelbirne nach dem letzten Spülen ca. 50 ml betrug.

c) Extraktion und Filtration

Auf einer Schüttelmaschine (Fa. Bühler, Typ Sm 6E) wurden die Proben zur Extraktion der Steroide aus den Gewebeteilchen 30 Minuten bei 150 UPM geschüttelt. Um danach die Gewebepartikel von der flüssigen Phase zu trennen, schloß sich ein Filtriergang an (Selecta-Faltenfilter, V 595 1/2 x 11 cm). Der Gewebesatz in den Filtern wurde verworfen.

Nach Zusatz von je 10 ml einer Lösung (48 % Methanol, 3 % Chloroform, 49 % Aqua dest.) und einem 10minütigen Schüttelgang wurden die Proben für 5 Minuten zentrifugiert. Danach wurde die überstehende, wässrige Phase mit den darin befindlichen, feinsten Gewebeteilchen und Lipiden abgesaugt und verworfen. Das Lösungsmittel mit den darin enthaltenen Steroiden wurde jetzt unter einem schwachen Preßluftstrom eingedampft.

Den unter c) beschriebenen Arbeitsgängen wurden auch die Proben mit dem Inkubationsmedium unterzogen.

d) Dünnschichtchromatographie

Zur Überführung der Steroide auf die Kieselgel-Platten wurden sie in 2 ml Chl.:Meth. gelöst. Dann wurden aus jeder Probe 400 mikro l entnommen und zu je 200 mikro l in

(1) Im folgenden Text wird für die erwähnte Lösung Chloroform : Methanol 2:1 v/v die Abkürzung Chl.:Meth. benutzt.

einem Spitzgläschen eingedampft. Nach erneutem Lösen in 20 mikro l Chl.:Meth. wurde zur einen Hälfte (200 mikro l) der entnommenen Aliquots eine Lösung mit Testosteron und seinen Metaboliten⁽¹⁾ zur anderen Hälfte ein Lösungsgemisch von Progesteron und seinen Metaboliten⁽²⁾ zugegeben. Der Inhalt eines jeden Spitzgläschens wurde nach kurzem Aufschütteln auf Kieselgel-Platten (Fa. Merck, F 254, Schichtdicke 0,25 mm) aufgetragen. Die Bahnbreite betrug 4 cm, die Laufstrecke 15 cm. Bei Tanksättigung wurde in zwei Systemen entwickelt:

System I: Chloroform : Methanol 97,5:2,5 v/v

System II: Dichlormethan : Acetylessigsäure : Aqua dest. 80:19:1 v/v/v

Als Carrier- bzw. Referenzsubstanzen wurden verwendet:

1. a) 5 alpha-androstan-3,17-dion (Androstandion)
b) 5 beta-androstan-3,17-dion
2. Androst-4-en-3,17-dion (Androstendion)
3. a) 5 alpha-androstan-17 beta-ol-3-on (Dihydrotestosteron)
b) 5 beta-androstan-17 beta-ol-3-on
4. Androst-4-en-17 beta-ol-3-on (Testosteron)
5. a) 5 alpha-androstan-3 alpha, 17 beta-diol (Androstandiol)
b) 5 alpha-androstan-3 beta, 17 beta-diol
6. 5 alpha-pregnan-3,20-dion (Allopregnandion)
7. Pregn-4-en-3,20-dion (Progesteron)
8. Pregn-4-en-20 alpha-ol-3-on
9. Pregn-4-en-6 beta-ol-3,20-dion

(1., 2., 3., 7., Fa. Merck; 3. und 4., Fa. Schuchardt; 5., Fa. Ikapharm; 6., 8., 9., Fa. Schering).

(1) 30 mikro l einer Lösung, die pro 1 ml Äthanol jeweils 1 mg der Carriersubstanzen 1. - 5. enthielt.

(2) 20 mikro l einer Lösung, die pro 1 ml Äthanol jeweils 10 mg der Carriersubstanzen 6. - 9. enthielt.

e) Darstellung und Identifizierung der Steroide

Zur Identifizierung der einzelnen Fraktionen dienten folgende Verfahren:

1. Auf jeder Kieselgel-Platte war eine Kontrollbahn mit bekannten Referenzsteroiden aufgetragen worden.
2. Lokalisation von Δ^4 -ungesättigten Steroiden unter UV-Licht bei 254 nm.
3. Radiochromatographie:

Mit einem Dünnschichtscanner (Fa. Berthold, Typ II) wurde von jeder Bahn ein Radiochromatogramm aufgezeichnet.

4. Färberische Darstellung:

Das benutzte Farbregenz setzte sich zusammen aus 1 % Anisaldehyd ($C_8H_8O_2$), 2 % konz. Schwefelsäure und 97 % Eisessig (CH_3COOH). Die Platten wurden mit dem Farbregenz besprüht und danach für 25 Minuten in einem Trockenschrank bei $90^\circ C$ deponiert.

In Tabelle 1 sind die identifizierten Testosteron- und in Tabelle 2 die identifizierten Progesteronmetaboliten zusammengestellt.

f) Radioaktivitätsmessung

Die identifizierten Fraktionen auf den Platten wurden ausgeschnitten und in Zählröhrchen (Fa. Packard) eingebracht. Vor der abschließenden Aktivitätsmessung wurden jeweils 20 ml Scintillationslösung (Zusammensetzung: PPO - Diphenyloxazol 8 g, Methanol 200 ml, Toluol 2000 ml) zugegeben. Die Messung erfolgte in einem Tri-Carb-Liquid-Scintillation-Spectrometer (Fa. Packard, Modell 544). Es wurde simultan auf einem 3H - und ^{14}C -Kanal gemessen. Nach automatischer Quenchkorrektur wurde Aktivität in dpm angegeben. Die wiederaufgefundene Radioaktivität betrug im Durchschnitt 64 % der eingesetzten Aktivität.

Tabelle 1: Identifizierte Testosteronmetaboliten

Substanz	Farbreaktion	Rf-Wert ⁽¹⁾
I. unpolare Metaboliten (nicht näher identifiziert)		
II. Androstandion	orange-rot	0,78
III. Androstendion	gelb	0,68
IV. Dihydrotestosteron	violett	0,53
V. Testosteron (unmetabol.)	grün	0,39
VI. Androstandiol	blau	0,26
VII. polare Metaboliten (nicht näher identifiziert)		

⁽¹⁾ Der Rf-Wert gilt bei IV. für 5 alpha-Dihydrotestosteron, bei VI. für 3 alpha-Androstandiol.

Tabelle 2: Identifizierte Progesteronmetaboliten

Substanz	Farbreaktion	Rf-Wert
I. unpolare Metaboliten (nicht näher identifiziert)		
II. Allopregnandion	rosa	0,78
III. Progesteron (unmetabol.)	braun-gelb	0,71
IV. 20 alpha-OH-4-pregnen-3-on	braun	0,47
V. 6 beta-OH-4-pregnen-3,20-dion	hellbraun	0,32
VI. unbekannter Metabolit	keine	0,13
VII. polare Metaboliten (nicht näher identifiziert)		

Die Abbildung 1 zeigt ein Chromatogramm von Progesteron und seinen Metaboliten.

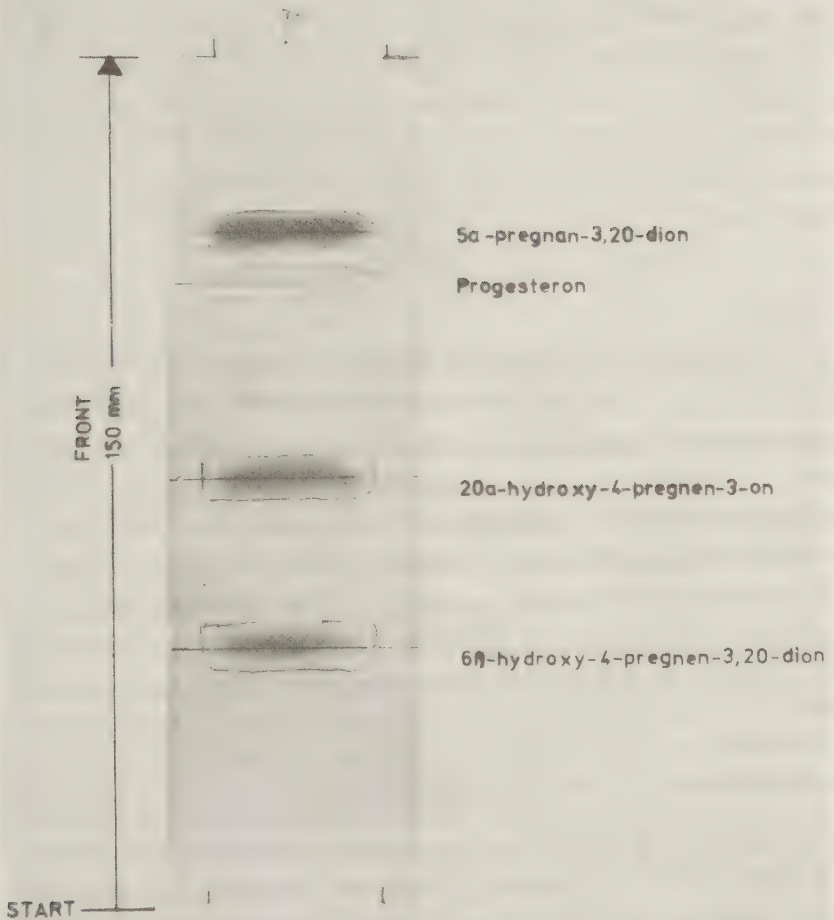


Abb. 1: Chromatogramm von Progesteron und seinen drei identifizierten Metaboliten.
Laufsysteme und Rf-Werte s. Kap. MATERIAL UND METHODE.

E. STATISTISCHES VERFAHREN UND ERGEBNISSE

1. Statistische Auswertung

Es wurden Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichung (s) und Standardabweichung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$ = Stichprobenfehler) anhand der Einzelwerte der Fraktionen von 6 Prostataadenomen als deskriptive, statistische Maßzahlen berechnet und in Tabellen und Graphiken dargestellt.

2. Ergebnisse

a) Beeinflussung des Testosteronstoffwechsels durch Progesteron

In Tabelle 3 sind Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen für Testosteron und seine Metaboliten in Prozent der wiederaufgefundenen Aktivität zusammengestellt.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen aus anderen Untersuchungen sind 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol die Hauptstoffwechselprodukte neben Androstandion, Androstendion, polaren und unpolaren Metaboliten. Die Werte für die Metaboliten des 5 alpha-Reduktionsabbaus von Testosteron, 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol, sowie für unverstoffwechseltes Testosteron aus den Versuchsreihen mit steigend inkubierter Progesteronkonzentration sind in den Tabellen 4, 5 und 6 wiedergegeben. (Auf eine Miterfassung der Werte für Androstandion, Androstendion sowie der polaren und unpolaren Metaboliten bei der statistischen Betrachtung wurde jetzt verzichtet. Ihr Anteil entsprach jenem Betrag, der in den Tabellen 4-6 zu den Einzel- und Mittelwerten eines Adenoms zu addieren wäre, um 100 % der wiederaufgefundenen Aktivität zu erhalten).

Aus den Tabellen 4a)-6a) ist ersichtlich, daß der Anteil des nichtmetabolisierten Testosterons im Gewebe bei den Versuchsgruppen mit wachsender Progesteronkonzentration nach dem Mittelwert anwächst, und zwar von 36,2 % (Tab. 3a) auf 81,1 % bei den Inkubationen mit maximaler Progesteronmenge. Auch im Inkubationsmedium kommt es zu einem Anwachsen des unverstoffwechselten Testosterons.

Gleichzeitig nimmt der Mittelwert für die Aktivitätsrate des 5 alpha-Dihydrotestosterons im Gewebe von 46,1 % auf 8,3 % und im Inkubationsmedium von 22,2 % auf 2,2 % ab. Wie die Mittelwerte für Androstandiol zeigen, kam es bei der niedrigsten Inkubations-

konzentration des Progesterons zu einem Anwachsen der Aktivitätsrate, während es bei den höheren Progesteronkonzentrationen auch hier zu einer Abnahme kam.

Das Verhalten der Mittelwerte - und in der Mehrzahl der Fälle auch dasjenige der Einzelwerte - zeigt, daß Progesteron in den oben angegebenen Konzentrationen in der Lage ist, den 5 alpha-Reduktionsstoffwechsel des Testosterons in der hypertrophischen Prostata hemmend zu beeinflussen.

Bei dieser Stoffwechselinhibition kam es besonders in den Versuchsreihen mit der maximal inkubierten Progesteronmenge zu einer Zunahme der Aktivitätsrate für das unmetabolisierte Androgen und zu einer ausgeprägten Abnahme seiner wichtigsten Metaboliten 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstadiol.

b) Progesteronstoffwechsel

Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Progesteronmetaboliten finden sich in den Tabellen 7-10. Die Werte aus den Versuchsreihen, in denen Adenomgewebe allein mit ^{14}C -Progesteron (Konzentration: $1,58 \times 10^{-6}$ Mol/l) sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Hauptmetaboliten des Progesterons sind 5 alpha-pregnan-3,20-dion (Allopregnandion) mit 14,7 % und 20 alpha-OH-4-pregnen-3-on mit 6,5 % der durchschnittlichen ^{14}C -Aktivität in der Gewebephase.

3,9 % entfielen nach dem Mittelwert im Gewebe auf einen unbekannten Metaboliten,⁽¹⁾ worin auch ein geringer Aktivitätsanteil enthalten ist, welcher radiochromatographisch als Peak "über" der Cholesterin-Lipid-Bande ermittelt wurde.

6 beta-OH-4-pregnen-3,20-dion war im Gewebe mit 1,1 %, im Inkubationsmedium mit 1,3 % vertreten. Die Mittelwerte der polaren Metaboliten waren sowohl im Gewebe (Tab. 7a) als auch im Medium (Tab. 7b) größer als diejenigen der unpolaren Stoffwechselprodukte.

Für alle Progesteronmetaboliten wurde im Gewebe ein mittlerer Aktivitätsanteil (Metabolisierungsrate) von insgesamt 33,2 % gefunden, während im Probenmedium Progesteron zu 14,9 % verstoffwechselt worden war.

⁽¹⁾ Darunter wurde die Aktivität für ein unbekanntes Stoffwechselprodukt mit sehr geringer Laufmotilität und negativer Farbreaktion erfaßt (vgl. auch i. Kap. Material und Methode).

Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit den Mittelwerten der drei identifizierten Abbauprodukte und des unmetabolisierten Gestagens in Tab. 8 zeigt, daß dessen Stoffwechsel mit der niedrigsten Substratzugabe ein Maximum erreichte. Im Gewebe blieben dabei 54,5 % und im Inkubationsmedium 75,4 % des Progesterons unmetabolisiert. Für die beiden wichtigsten Metaboliten, 5 alpha-pregnan-3,20-dion und 20 alpha-OH-4-pregnen-3-on, betrug die mittlere Aktivitätsrate in der Gewebephase 11,7 % bzw. 8,9 %.

Mit steigendem Substratangebot nahm die Metabolisierung des Progesterons ab (vgl. Tab. 9 u. 10). Die durchschnittliche Aktivität für nichtmetabolisiertes Progesteron stieg im Gewebe auf 69,7 % und 87,7 %, während der Anteil der beiden Hauptmetaboliten bei maximal inkubierter Progesteronkonzentration ($1,58 \times 10^{-5}$ Mol/l) sowohl im Gewebe als auch in der flüssigen Phase der Versuchsansätze gering war. Der dritte Progesteronmetabolit, 6 beta-OH-4-pregnen-3,20-dion, trat relativ unabhängig von der zugegebenen Progesteronkonzentration immer nur mit minimalen Anteilen der ^{14}C -Aktivität auf. Bei der statistischen Betrachtung des Progesteronabbaus für die Versuchsreihen mit Doppelsubstratinkubation wurden die unbekannten, nicht näher identifizierten Metaboliten nicht mehr berücksichtigt.

Das Verhalten der Mittelwerte für Testosteron, Progesteron und ihrer Metaboliten ist in den Abbildungen 2-8 dargestellt.

c) Metabolisierung des Progesterons und Hemmung der 5 alpha-Reduktase-Aktivität beim Testosteronabbau

Die Progesteronstoffwechselung erreichte ein Maximum mit derjenigen Substratmenge, bei der ein Hemmungseffekt des Gestagens auf die spezifische Enzymaktivität im Testosteronstoffwechsel noch wenig ausgeprägt war. Progesteron war bei diesen Versuchsreihen durchschnittlich zu 45,5 % im Gewebe und zu 24,6 % im Probenmedium als verstoffwechselt gefunden worden.

In den Experimenten mit hohem Progesteronzusatz traten die wichtigen Reduktionsprodukte des Testosterons, 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstadiol, deutlich vermindert gegenüber denjenigen Versuchsreihen auf, in denen Testosteron allein inkubiert worden war. Gemessen an der Aktivitätsrate seiner beiden Hauptmetaboliten war der Abbau des C_{21} -Steroids dabei minimal. Für Progesteron wurde anhand der mittleren ^{14}C -Aktivität im Gewebe noch eine Metabolisierungsrate von 12,3 % und im Inkubationsmedium von 11,0 %

bestimmt, wobei der Anteil der beiden Hauptmetaboliten des Progesterons 4,9 % (im Gewebe) und 2,3 % (im Medium) betrug (vgl. Tab. 6 u. 10).

Tabellen 3-6

Wiederaufgefundenen ^3H -Aktivität in % dpm bei 6facher Inkubationswiederholung.

Tab. 3: Testosteron und alle Metaboliten bei Einzelsubstratinkubation. Tab. 4-6:

Testosteron und seine 5 alpha-Reduktionsprodukte bei steigendem Progesteronzusatz.

a) im Gewebe,

b) im Inkubationsmedium aufgefundene Aktivität.

Es bedeuten in den Tab. 3-6:

PA = Prostataadenom

I = unpolare Metaboliten

II = Androstandion

III = Androstendion

IV = 5 alpha-Dihydrotestosteron

V = Testosteron (nicht metabolisiert)

VI = Androstandiol

VII = polare Metaboliten

Tabelle 3a: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron

PA	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	0,5	3,3	1,1	47,1	41,4	3,8	2,8
2	1,1	4,3	1,2	37,5	31,4	18,1	6,4
3	0,6	3,2	1,1	47,2	40,0	5,1	2,8
4	0,8	4,2	1,1	50,0	34,6	5,9	3,4
5	1,3	9,6	1,7	44,2	31,7	6,2	5,3
6	1,2	3,6	0,2	50,8	38,3	3,3	2,6
$\bar{x}$	0,9	4,7	1,1	46,1	36,2	7,1	3,9
s	0,3	2,4	0,4	4,8	4,2	5,5	1,5
$s_{\bar{x}}$	0,1	0,9	0,1	1,9	1,7	2,2	0,6

Tabelle 3b: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron

PA	I	II	III	VI	V	VI	VII
1	0,3	1,4	1,3	26,0	66,0	2,1	2,9
2	0,6	2,2	1,9	22,4	47,5	14,3	11,1
3	0,3	1,3	1,3	26,2	66,1	1,9	2,9
4	0,5	1,2	2,2	17,7	72,3	2,1	4,0
5	0,4	4,8	2,9	25,9	58,1	5,3	2,6
6	0,9	1,2	2,2	15,0	75,4	1,3	4,0
$\bar{x}$	0,5	2,0	2,0	22,2	64,2	4,5	4,6
s	0,2	1,4	0,6	4,8	10,2	5,0	3,2
$s_{\bar{x}}$	0,1	0,5	0,2	0,2	1,9	2,0	1,3

Tabelle 4: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron
 $+ 1,58 \times 10^{-7}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron

a)

PA	IV	V	VI
1	26,9	48,0	16,8
2	27,3	47,2	17,5
3	33,2	50,0	2,7
4	48,2	25,6	19,2
5	40,6	39,6	6,2
6	18,1	53,8	7,7
$\bar{x}$	32,3	44,0	11,6
s	10,7	10,1	6,9
$s_{\bar{x}}$	4,3	4,1	2,8

b)

PA	IV	V	VI
1	11,8	69,4	8,3
2	11,9	68,6	9,6
3	17,1	72,7	1,3
4	19,7	68,0	3,6
5	13,6	75,0	3,4
6	13,7	70,7	3,2
$\bar{x}$	14,6	70,7	4,9
s	3,1	2,6	3,2
$s_{\bar{x}}$	1,2	1,0	1,3

Tabelle 5: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron
 $+ 1,58 \times 10^{-6}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron

a)

PA	IV	V	VI
1	14,8	62,3	2,0
2	15,5	47,4	10,0
3	31,7	58,2	6,0
4	11,5	66,2	1,0
5	32,1	60,0	1,5
6	19,7	57,6	3,1
$\bar{x}$	20,8	58,6	3,9
s	8,9	6,3	3,4
$s_{\bar{x}}$	3,6	2,5	1,4

b)

PA	IV	V	VI
1	36,7	31,4	5,2
2	6,9	66,7	4,8
3	13,3	80,4	3,1
4	4,9	87,2	0,8
5	8,4	88,4	0,8
6	4,7	80,3	1,6
$\bar{x}$	12,4	72,4	2,7
s	12,2	21,5	1,9
$s_{\bar{x}}$	5,0	8,7	0,8

Tabelle 6: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron
 $+ 1,58 \times 10^{-5}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron

a)

PA	IV	V	VI
1	9,7	71,9	7,8
2	13,9	62,5	5,3
3	3,7	87,7	0
4	7,2	89,3	0,1
5	5,0	91,7	0,1
6	10,8	83,6	2,9
$\bar{x}$	8,3	81,1	2,7
s	3,8	11,4	3,2
$s_{\bar{x}}$	1,5	4,6	1,3

b)

PA	IV	V	VI
1	2,2	89,4	1,7
2	0,6	87,4	2,2
3	1,4	93,2	0
4	5,1	90,9	0
5	2,3	95,6	0
6	2,1	90,4	0
$\bar{x}$	2,2	91,1	0,6
s	1,1	2,8	1,0
$s_{\bar{x}}$	0,6	1,1	0,4

Tabellen 7-10

Wiederaufgefundene ^{14}C -Aktivität in % dpm für Progesteron und seine Metaboliten aus jeweils 6 Versuchsreihen. Tab. 7: Progesteron und alle Metaboliten bei Einzelsubstratinkubation mit Progesteron. Tab. 8-10: Progesteron und seine drei identifizierten Abbauprodukte bei steigender Hormonkonzentration.

- a) im Gewebe,
b) im Inkubationsmedium aufgefundene ^{14}C -Aktivität.

Es bedeuten in den Tab. 7-10:

- PA = Prostataadenom
I = unpolare Metaboliten
II = 5 alpha-pregnan-3,20-dion
III = Progesteron (nicht metabolisiert)
IV = 20 alpha-OH-4-pregnen-3-on
V = 6 beta-OH-4-pregnen-3,20-dion
VI = unbekannter Metabolit
VII = polare Metaboliten

Tabelle 7a: $1,58 \times 10^{-6} \text{ Mol/l } ^{14}\text{C}$ -Progesteron

PA	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	2,1	17,9	66,2	4,3	0,7	4,2	4,6
2	1,8	19,9	61,5	4,5	1,7	4,7	5,9
3	0,7	15,8	68,4	7,6	0,8	3,2	3,5
4	1,4	10,6	74,3	6,8	0,6	1,9	4,4
5	2,0	9,5	69,9	5,4	1,0	3,3	8,9
6	2,8	14,4	60,8	10,4	2,1	5,9	3,6
$\bar{x}$	1,9	14,7	66,8	6,5	1,1	3,9	5,1
s	0,7	4,0	5,1	2,3	0,6	1,3	2,0
$s_{\bar{x}}$	0,2	1,6	2,1	0,9	0,2	0,5	0,8

Tabelle 7b: $1,58 \times 10^{-6}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron

PA	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	0,5	7,0	86,6	1,3	1,1	1,2	2,3
2	1,2	2,0	83,8	1,7	1,1	3,2	7,0
3	0,7	3,0	88,7	1,2	0,8	3,8	1,8
4	1,8	1,9	86,7	1,0	1,6	1,3	5,7
5	1,0	3,4	90,0	1,3	1,0	1,1	2,2
6	2,3	4,5	74,8	3,1	2,7	3,3	9,3
$\bar{x}$	1,2	3,7	85,1	1,6	1,3	2,3	4,8
s	0,6	1,9	5,4	0,7	0,6	1,2	3,1
$s_{\bar{x}}$	0,2	0,7	2,2	0,3	0,2	0,5	1,2

Tabelle 8: $1,98 \times 10^{-7}$ Mol/l ^3H -Testosteron
+ $1,58 \times 10^{-7}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron

a)

PA	II	III	IV	V
1	16,3	42,1	17,6	0,8
2	23,3	55,1	2,7	1,0
3	20,2	64,8	1,9	1,0
4	14,8	52,9	13,4	0,7
5	18,7	57,3	9,2	0,9
6	13,2	55,1	9,0	6,0
$\bar{x}$	17,7	54,5	8,9	1,7
s	3,7	7,3	6,0	2,0
$s_{\bar{x}}$	1,5	3,0	2,4	0,8

b)

PA	II	III	IV	V
1	13,0	66,4	4,8	1,8
2	5,4	83,9	2,4	1,2
3	6,8	83,8	1,4	1,8
4	3,0	80,7	2,7	1,3
5	11,9	74,8	3,8	2,5
6	8,1	63,0	2,3	3,1
$\bar{x}$	8,0	75,4	2,9	1,9
s	3,8	9,0	1,2	0,7
$s_{\bar{x}}$	1,5	3,6	0,4	0,2

Tabelle 9: $1,98 \times 10^{-7} \text{ Mol/l } ^3\text{H-Testosteron}$
 $+ 1,58 \times 10^{-6} \text{ Mol/l } ^{14}\text{C-Progesteron}$

a)

PA	II	III	IV	V
1	23,4	59,6	2,5	0,8
2	11,8	64,4	5,5	0,1
3	21,3	68,5	3,0	0,4
4	2,0	87,8	1,9	1,7
5	13,8	67,7	7,3	0,8
6	8,0	70,2	5,0	2,7
$\bar{x}$	13,3	69,7	4,2	1,0
s	8,0	9,6	2,0	0,9
$s_{\bar{x}}$	3,2	3,9	0,8	0,3

b)

PA	II	III	IV	V
1	7,3	87,3	0,7	1,3
2	3,4	87,3	1,5	1,2
3	4,0	89,7	1,3	1,3
4	1,1	85,1	1,4	0,6
5	1,3	94,2	1,4	0,6
6	2,5	80,0	2,5	3,7
$\bar{x}$	3,2	87,2	1,4	1,6
s	2,2	4,7	0,5	1,0
$s_{\bar{x}}$	0,9	1,9	0,2	0,4

Tabelle 10: $1,98 \times 10^{-7} \text{ Mol/l } ^3\text{H-Testosteron}$
 $+ 1,58 \times 10^{-5} \text{ Mol/l } ^{14}\text{C-Progesteron}$

a)

PA	II	III	IV	V
1	1,4	94,6	0,6	0,9
2	7,0	74,5	5,3	1,2
3	2,0	89,0	2,6	0,6
4	0,6	91,1	1,5	2,0
5	3,0	92,2	1,3	0,5
6	3,0	85,1	1,7	1,1
$\bar{x}$	2,8	87,7	2,1	1,0
s	2,2	7,2	1,6	0,5
$s_{\bar{x}}$	0,9	2,9	0,6	0,2

b)

PA	II	III	IV	V
1	3,6	86,2	1,8	1,0
2	0,7	89,2	0,1	0,9
3	0,9	91,4	0,8	1,4
4	1,4	88,2	1,1	1,8
5	1,0	94,4	0,4	0,7
6	1,3	84,9	1,2	1,5
$\bar{x}$	1,4	89,0	0,9	1,2
s	1,0	3,4	0,6	0,4
$s_{\bar{x}}$	0,4	1,4	0,2	0,1

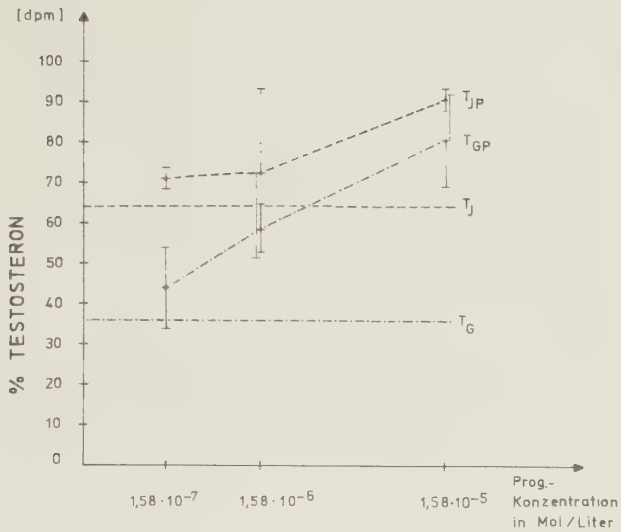


Abb. 2: Mittelwerte für nicht metabolisiertes Testosteron.

T_J und T_G = Mittelwerte für Testosteron bei Einzelsubstratinkubation mit ^3H -Testosteron im Inkubationsmedium (T_J) und im Gewebe (T_G). T_{GP} und T_{JP} = Mittelwerte für Testosteron und Standardabweichungen ($\pm s$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration P (Skaleneinteilung logarithmisch). Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^3H -Aktivität.

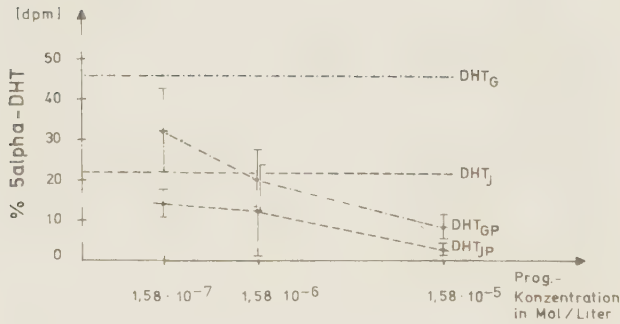


Abb. 3: Mittelwerte für 5 alpha-Dihydrotestosteron.

DHT_G und DHT_J = Mittelwerte für aus ^3H -Testosteron entstandenem 5 alpha-Dihydrotestosteron im Gewebe (G) und im Inkubationsmedium (J). DHT_{GP} und DHT_{JP} = Mittelwerte für 5 alpha-Dihydrotestosteron und Standardabweichungen ($\pm s$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration P (Skaleneinteilung logarithmisch). Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^3H -Aktivität.

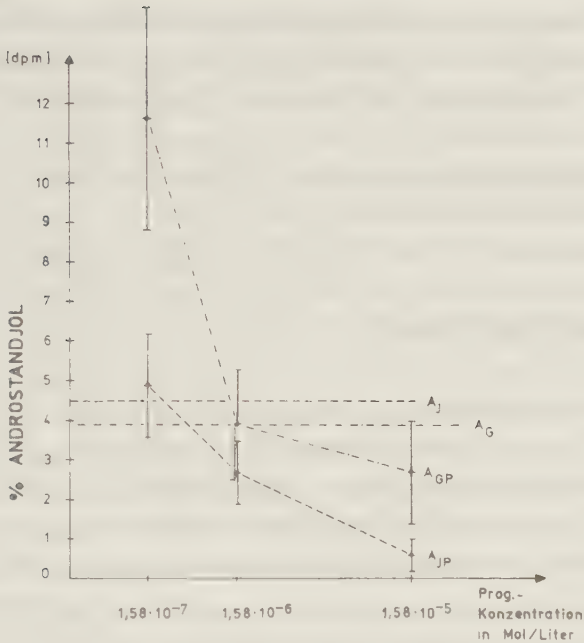


Abb. 4: Mittelwerte für Androstadiol.

A_J und A_G = Mittelwerte für aus ^3H -Testosteron entstandenes Androstadiol im Inkubationsmedium (A_J) und im Gewebe (A_G) bei Einzelsubstratinkubation mit Testosteron. A_{GP} und A_{JP} = Mittelwerte für den Testosteronmetaboliten und Stichprobenfehler ($\pm s_x$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration (Skaleneinteilung logarithmisch). Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^3H -Aktivität.

F. DISKUSSION

Der kurze Zeitraum zwischen Prostataktomie und Verarbeitung der Gewebeproben sowie die Gewebebehandlung nach der operativen Entnahme schließen regressive Veränderungen aus. Verunreinigungen durch Bakterien wurden durch die sterilen Arbeitsbedingungen vermieden. Eine Überlagerung der untersuchten Enzymaktivitäten durch bakterielle Stoffwechselreaktionen braucht nicht in Erwägung gezogen zu werden.

Die beiden verwendeten radioaktiven Hormone erfüllten die Bedingungen, die an geeignete Tracer zu stellen sind (Axelrod et al., 1965).

Bei in vitro Inkubationen bis zu zwei Stunden Dauer bleiben die zellständigen NADPH_2 -Generationssysteme intakt (Farnsworth, 1971). Daher waren entsprechende Zusätze zu den Versuchsansätzen nicht erforderlich.

Die Verfahren, mit denen die Steroide identifiziert wurden, waren bezüglich ihrer Genauigkeit ausreichend (Axelrod et al., 1965).

Durch die getrennte Verarbeitung von Gewebe und Inkubationsmedium sollte eine Extraktion gewebebeständiger Hormone und Enzyme mittels des Mediums verhindert werden. Weiterhin ergab sich dadurch eine Kontrollmöglichkeit im Hinblick auf eine Verteilung der wiederaufgefundenen Radioaktivität und damit über die Lokalisation der Metaboliten.

Die quantitative ^3H -Aktivitätsverteilung auf die Testosteronmetaboliten bestätigen die Fähigkeit des Prostataadenomgewebes, das Androgen zu verstoffwechseln, wie dies von anderen Autoren beschrieben wurde (Farnsworth et al., 1962 u. 1963; Shizmazaki et al., 1965 b u. 1971).

Bei den Einzelinkubationen mit Testosteron als Substrat entstanden als Hauptmetaboliten 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol. Weitere Metaboliten waren Androstendion und Androstendion sowie polare und unpolare Stoffwechselprodukte (vgl. Tab. 3a, b, S. 21 u. 22).

Das Verhalten des unmetabolisierten Testosterons und seiner beiden wichtigsten Abbauprodukte, 5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol, sollte in Gegenwart einer steigenden Progesteronkonzentration geprüft werden (vgl. Tab. 4-6, S. 22 u. 23).

Progesteron bewirkte in allen inkubierten Konzentrationen ein Anwachsen des nichtmetabolisierten Testosterons und hemmte die Entstehung von 5 alpha-Dihydrotestosteron.

Bei der Fraktion des Androstandiols kam es lediglich in den Versuchsreihen mit dem nie-

drigsten Progesteronzusatz zu einem Anstieg der mittleren ^3H -Aktivität gegenüber den Inkubationsreihen ohne Progesteronzusatz. Eine Umwandlung von Progesteron zu Androstandiol kann insofern verneint werden, als die Radioaktivitätsmessung simultan die beiden Isotopen erfaßte. Wäre Androstandiol aus Progesteron entstanden, so hätte sich dies bei der Aktivitätsmessung auf dem ^{14}C -Kanal nachweisen lassen. Die beiden höheren Progesteronkonzentrationen bewirkten auch beim Androstandiol ein deutliches Absinken der mittleren Aktivitätsrate.

Die inkubierten Progesteronkonzentrationen hemmen den Testosteronabbau, und zwar sowohl den Schritt vom Testosteron zum 5 alpha-Dihydrotestosteron als auch zum Androstandiol. Die Suppression der Testosteronverstoffwechselung ist maximal bei einer Progesteronkonzentration von $1,58 \times 10^{-5} \text{ Mol/l}$.

Zur Erklärung der Suppression, die Progesteron auf den Testosteronstoffwechsel ausübt, seien die folgenden Punkte aufgeführt:

1. Möglicherweise könnte das Progesteron schon bei der Testosteronaufnahme in die Zelle das Androgen von den entsprechenden Zellwandstellen (Rezeptoren) verdrängen, so daß in Gegenwart von Progesteron weniger Testosteron von der Zelle aufgenommen und metabolisiert werden kann (Tveter et al., 1969). Daß Progesteron in der Lage ist, die Bindungskapazität intrazellulärer, androphiler Proteine herabzusetzen, wurde nachgewiesen (Baulieu et al., 1970).

Wenn Progesteron die Entstehung von Komplexen zwischen Dihydrotestosteron und Rezeptoren für diesen Testosteronmetaboliten zu einem großen Ausmaße unterdrückt, und wenn Androgen-Rezeptoren-Komplexe die aktiven androgenen Hormonformen in der Prostata sind (Mangan et al., 1970), ließe sich zumindest die proliferative Effektivität des Dihydrotestosterons durch Progesteron aufheben. Dies könnte in entsprechenden Untersuchungen an Organkulturen und auch in tierexperimentellen Studien geprüft werden.

2. Bei der Hemmung des Testosteronstoffwechsels durch Progesteron ist sicherlich auch die Substratfunktion des Gestagens, die es für die 5 alpha-Reduktase besitzt, von entscheidender Bedeutung.

Nach Frederiksen et al. (1971) besitzt nicht nur das Progesteron eine höhere Substratwirkung für die 5 alpha-Reduktase, sondern auch andere Steroidhormone, die einander entsprechende Merkmale ihrer chemischen Strukturformeln aufweisen, wodurch sicherlich auch ähnliche biologische Angriffspunkte und Wirkmechanismen bedingt sind. Das weib-

liche Sexualhormon, Progesteron, würde also im Prostataadenomgewebe, dank einer größeren Enzymaffinität, dem Testosteron einen Teil der 5 alpha-Reduktase blockieren, woraus ein verminderter initialer Testosteronabbau resultieren würde.

Ob auch ein hemmender Effekt des Progesterons auf jene Enzymaktivitäten ausgeübt wird, die für die Umwandlung des 5 alpha-Dihydrotestosterons in Androstandiol maßgebend sind, vermag durch die hier durchgeführten Experimente nicht beantwortet zu werden. Die Verminderung des Androstandiols in Anwesenheit höherer Progesteronkonzentrationen könnte natürlich auch durch den verringerten Anteil des aus Testosteron entstandenen Dihydrotestosterons resultieren, wenn dieses als obligates Intermediärprodukt vor dem Androstandiol gilt (Baulieu et al., 1970). Beantwortet werden könnte diese Frage durch eine Untersuchungsreihe, in der Prostataadenomgewebe mit 5 alpha-Dihydrotestosteron und Progesteron inkubiert würde.

Die Fähigkeit der adenomatös veränderten menschlichen Prostata, Progesteron zu metabolisieren, wurde durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Die von Acevedo et al. (1965 a) gefundenen Progesteronmetaboliten traten hier jedoch mit einem weit höheren Anteil der wiederaufgefundenen ^{14}C -Aktivität auf. Nach Acevedo et al. betrug die Metabolisierungsrate für das ^{14}C -markierte Gestagen 1,9-6,9 %, während hier eine maximale Verstoffwechselung für Progesteron ermittelt wurde, die für die Gewebephase 45,5 % und das Medium der Versuchsansätze 24,6 % betrug.

Eine Erklärung für die differenzierenden Resultate ist sicherlich durch die unterschiedliche Art der Entnahme des biologischen Materials bedingt. Während bei diesen Experimentreihen ausschließlich suprapubisch entnommenes Gewebe inkubiert worden war, verwendeten die oben erwähnten Autoren mit einer Ausnahme auf transurethralem Wege gewonnenes Gewebe. (Eine Gewebsalteration bei transurethraler Resektion ist anzunehmen).

Hauptmetabolit des Progesterons war 5 alpha-pregnan-3,20-dion. Die oben bereits erwähnte Substratfunktion des Progesterons für die 5 alpha-Reduktase wurde dadurch bestätigt. Für das Entstehen der beiden anderen Progesteronmetaboliten, 20 alpha-hydroxy-4-pregnen-3-on und 6 beta-hydroxy-4-pregnen-3,20-dion, sind die entsprechenden Enzyme, eine 20 alpha-Hydroxylase und eine 6 beta-Hydroxylase, nachgewiesen (Acevedo et al., 1965 a).

Frederiksen et al. (1971) erwähnten auch für den hier als zweitwichtigsten identifizierten

Progesteronmetaboliten, das 20 alpha-hydroxy-4-pregnen-3-on, eine höhere Substratspezifität der 5 alpha-Reduktase als für Testosteron. Nach seiner Entstehung aus Progesteron könnte der Progesteronmetabolit neben dem Progesteron ebenfalls freies Enzym blockieren, welches dann für die Testosteronreduktion nicht mehr zur Verfügung stehen würde.

Die maximale Abbaurate des Progesterons wurde bei niedrigstem Substratzusatz beobachtet ($1,58 \times 10^{-7}$ Mol/l ^{14}C -Progesteron). In einer Geschwindigkeits-Konzentrationskurve würde diese Progesteronkonzentration im Bereich des Substratoptimums liegen. Mit steigendem Substratzusatz nahm die Metabolisierungsrate für Progesteron ab. Vor allem für die 5 alpha-Reduktase ist hier an eine Hemmung durch Substratüberschuß zu denken. Dieser Substratüberschuß des Progesterons zusammen mit der Substratwirkung des Testosterons ist möglicherweise auch für die maximale Hemmung des Testosteronstoffwechsels bei jenen Versuchsreihen mitverantwortlich, wo mit der höchsten Progesteronkonzentration inkubiert worden war.

Ob die drei identifizierten Progesteronmetaboliten selbst wieder eine Effektivität im Sinne einer Beeinflussung der Androgenaktion oder der prostatistischen Organstrukturen zu entfalten vermögen, könnte durch entsprechende Untersuchungen geklärt werden.

Bei der Betrachtung der statistischen Ergebnistabellen ist zu bedenken, daß Differenzen und Abweichungen zwischen den prozentualen Aktivitätsraten der einzelnen Prostataadenome, wie sie durch Standardabweichungen (s) und Stichprobenfehler ($s_{\bar{x}}$) angezeigt sein mögen, hier eine relative Aussagefähigkeit haben. Es ist dabei die unterschiedliche Organstruktur, der variierende Grad einer adenomatösen Veränderung und Enzymausstattung der einzelnen Prostatae in Erwägung zu ziehen. Eine Betrachtung der sechs untersuchten Prostataadenome mit Herausstellung der Tendenz des Verhaltens für die verschiedenen Metabolisierungsprodukte wurde anhand der berechneten Mittelwerte vollzogen.

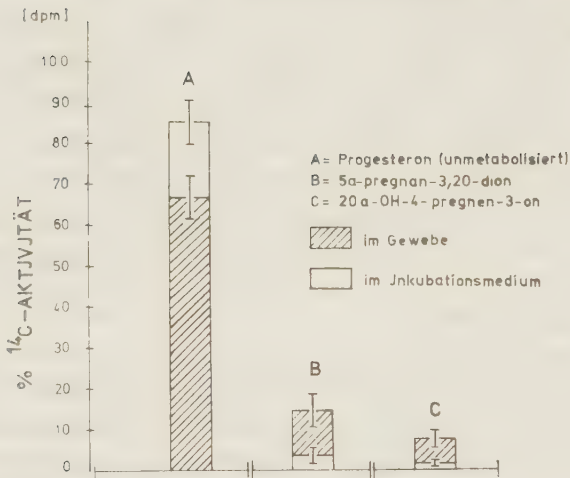


Abb. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen ($\pm s$) für nicht metabolisiertes Progesteron und seine beiden wichtigsten Metaboliten bei Einzelsubstratinkubationen mit ^{14}C -Progesteron. Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^{14}C -Aktivität.

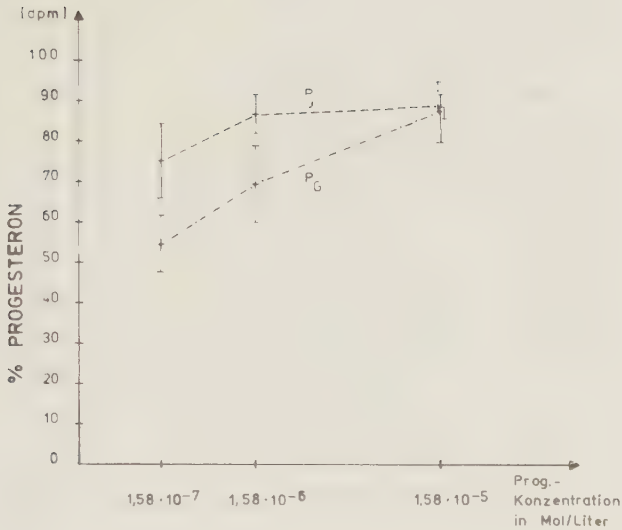


Abb. 6: Mittelwerte für nicht metabolisiertes Progesteron und Standardabweichungen ($\pm s$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration (Skaleneinteilung logarithmisch) bei Doppelsubstratinkubationen mit ^3H -Testosteron und ^{14}C -Progesteron. P_J = Progesteron im Inkubationsmedium und P_G = Progesteron im Gewebe. Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^{14}C -Aktivität.

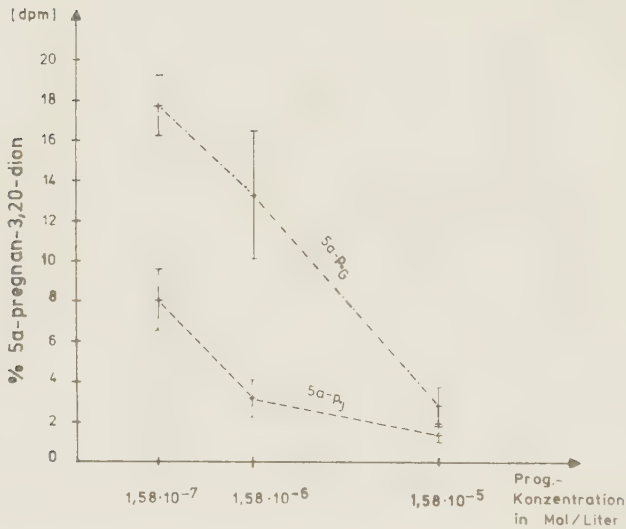


Abb. 7: Mittelwerte des wichtigsten Progesteronmetaboliten, 5 alpha-pregnan-3,20-dion und Standardabweichungen der Mittelwerte ($\pm s_x$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration (Skaleneinteilung logarithmisch).

5α-p._G = 5 alpha-pregnan-3,20-dion im Gewebe und 5α-p._J = 5 alpha-pregnan-3,20-dion im Inkubationsmedium. Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ^{14}C -Aktivität bei Doppelsubstratinkubation mit ^3H -Testosteron und ^{14}C -Progesteron.

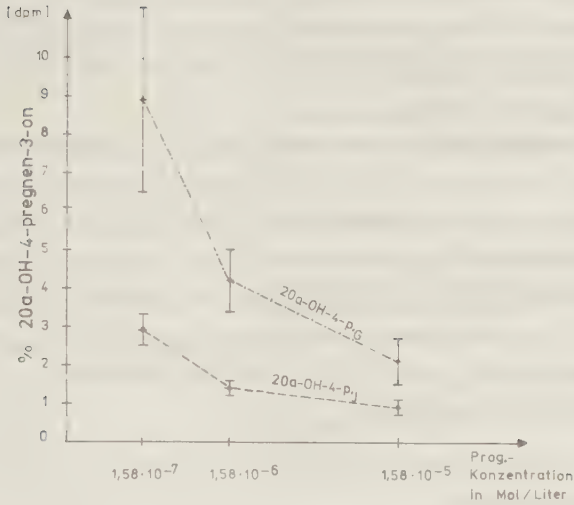


Abb. 9: Mittelwerte für den Progesteronmetaboliten 20 alpha-hydroxy-4-pregnen-3-on und Standardabweichungen der Mittelwerte ($\bar{x}$ - $s_{\bar{x}}$) in Abhängigkeit von der jeweilig inkubierten Progesteronkonzentration (Skaleneinteilung logarithmisch).

20α-OH-4-p_G = Mittelwert für den Metaboliten im Gewebe,

20α-OH-4-p_J = Mittelwert für den Metaboliten im Inkubationsmedium.

Angaben in % dpm der wiederaufgefundenen ¹⁴C-Aktivität bei Doppelsubstratinkubation mit ³H-Testosteron und ¹⁴C-Progesteron.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Durch Einzel- und Doppelsubstratinkubation mit ^{14}C -Progesteron und ^3H -Testosteron sollte der Metabolismus dieser Hormone im menschlichen Prostataadenomgewebe, das durch suprapubische Protatektomie gewonnen worden war, bei in vitro Untersuchungen geprüft werden. Die Trennung der entstandenen Testosteron- und Progesteronmetaboliten erfolgte durch Dünnschichtchromatographie, ihr Radioaktivitätsanteil wurde durch eine Szintillationsmessung bestimmt.

Die Ergebnisse bestätigen die bereits beschriebene Fähigkeit des Prostataadenomgewebes, Progesteron zu metabolisieren. Die von Acevedo et al. (1965 a) angegebenen Progesteronmetaboliten wurden hier mit einem höheren prozentualen Aktivitätsanteil aufgefunden. Mit steigendem Progesteronzusatz nahm dessen Verstoffwechselung ab.

5 alpha-Dihydrotestosteron und Androstandiol waren die quantitativ wichtigsten Testosteronmetaboliten. Bei den Inkubationen mit steigender Progesteronkonzentration wurde der initiale Testosteronabbau, gemessen am Auftreten der beiden Metaboliten, durch die Anwesenheit des Gestagens gehemmt.

Zur Betrachtung der Einzelergebnisse wurden Mittelwerte berechnet und diese in Tabellen und Graphiken dargestellt.

Die Untersuchungsergebnisse wurden diskutiert.

H. QUELLENVERZEICHNIS

- AAKVAAG, A.,
K.J. TVETER,
O. UNHJEM
et al. (1972)
- ACEVEDO, H.F.,
J.W. GOLDZIEHER
(1964)
- ACEVEDO, H.F.,
J.W. GOLDZIEHER
(1965 a)
- ACEVEDO, H.F.,
J.W. GOLDZIEHER
(1965 b)
- ALIPOULIOS, M.A.,
J. CHAMBERLAIN,
N. JAGARINEC,
P. OFNER
(1965)
- ANDERSON, W.A.D.
(1966)
- ANDERSON, K.M.,
S. LIAO
(1968)
- ANDERSON, M.,
J. MÜNTZING
(1972)
- ANDREWS, G.S.
(1951)
- Receptors and binding of androgens in the prostate.
J. Steroid. Biochem.
3: 375-384
- The metabolism of (4-¹⁴C) 4-androstene-3,17-dione by normal human prostate tissue.
Biochim. Biophys. Acta 82: 118-121
- The metabolism of (4-¹⁴C) progesterone by hypertrophic and carcinomatous human prostate tissue.
Biochim. Biophys. Acta
111: 294-298
- Further studies on the metabolism of 4-(4-¹⁴C) androstene-3,17-dione by normal and pathological human prostate tissue.
Biochim. Biophys. Acta
97: 564-570
- Metabolism of (4-¹⁴C) testosterone by human and canine prostate.
Biochem. J.
98: 15 P - 16 P
- Pathology. 5. th ed.
Mosby, St. Louis (Miss.),
(1966) S. 668
- Selective retention of dihydrotestosterone by prostatic nuclei.
Nature
219: 277-279
- The effect of a long acting estrogen on the activity of some hydrolases in the ventral prostate of intact, castrated, and androgen treated castrated adult rats.
Invest. Urol.
9: 401-407
- The histology of the human foetal and prepubertal prostates.
J. Anat.
85: 44-54

AXELROD, L.R.,
C. MATTHIJSEN,
J.W. GOLDZIEHER,
J.E. PULLIAM
(1965)

BAULIEU, E.E.,
I. LASNITZKI,
P. ROBEL
(1968)

BAULIEU, E.E.,
I. JUNG
(1970)

BECKER, H.,
L. BURIC,
C. PETERSEN,
K.D. VOIGT
(1971)

BECKER, H.,
J. KAUFMANN,
H. KLOSTERHALFEN
et al. (1972)

BIRD, C.E.,
R.N. GREEN,
R.S. CALANDRA
et al. (1971)

BRENNER, P.F.,
H.T. HUTCHINSON,
P.K. SIITERI
et al. (1969)

BRUCHOVSKY, N.,
J.D. WILSON
(1968 a)

BRUCHOVSKY, N.,
J.D. WILSON
(1968 b)

BURIC, L.,
H. BECKER,
C. PETERSEN
K.D. VOIGT (1972)

Definitive identification of microquantities
of radioactive steroids by recrystallization to
constant specific activity.
Acta Endocrinologica
Suppl. 99: 7-77

Metabolism of testosterone and action of meta-
bolites on prostate gland grown in organ culture.
Nature
219: 1155-1156

A prostatic cytosol receptor.
Biochem. Biophys. Res. Commun.
38: 599-606

Testosterone metabolism in human prostatic tissue
and blood in patients with BPH.
Acta Endocrinol. Suppl.
152: 28

In vivo uptake and metabolism of ^3H -testosterone
and ^3H -5 alpha-dihydrotestosterone by human
benign prostatic hypertrophy.
Acta Endocrinol.
71: 589-599

Kinetics of ^3H -testosterone metabolism in patients
with carcinoma of the prostate: effects of oestro-
gen administration.
Acta Endocrinol.
67: 733-739

The origin of estrogen in normal males and in
males with gynecomastia.
Program of the Endocrine Soc. S. 38

The conversion of testosterone to 5 alpha-androstan-
17 beta-ol-3-one by rat prostate in vivo and in
vitro.
J. Biol. Chem.
243: 2012-2021

The intranuclear binding of testosterone and
5 alpha-androstan-17 beta-ol-3-one by rat
prostate.
J. Biol. Chem.
243: 5953-5960

Metabolism and mode of action of androgens in
target tissues of male rats.
Acta Endocrinol.
69: 153-164

- CHAMBERLAIN, J.,
N. JAGARINEC,
P. OFNER
(1966 a)
- CHAMBERLAIN, J.,
N. JAGARINEC,
P. OFNER
(1966 b)
- CORVOL, P.L.,
A. CHRAMBACH,
D. RODBARD,
C.W. BARDIN
(1971)
- DAVIES, P.,
A.R. FATMY,
C.G. PIERREPOINT
et al. (1972)
- FANG, S.,
S. LIAO
(1969 b)
- FANG, S.,
S. LIAO
(1971)
- FARNSWORTH, W.E.,
J.R. BROWN
(1962)
- FARNSWORTH, W.E.,
J.R. BROWN
(1963)
- FARNSWORTH, W.E.
(1966)
- FARNSWORTH, W.E.
(1971)
- FRANKS, L.M.
(1954)
- Catabolism of (4-¹⁴C)-testosterone by subcellular fractions of human prostate.
Biochem. J.
99: 610-616
- Metabolism of (4-¹⁴C)-testosterone by microsomal preparations of benign hypertrophic human prostate (BPH).
Excerpta Med. Intern. Congr. Ser.
111: Abstr. No. 490
- Physical properties and binding capacity of testosterone-estradiol-binding globulin in human plasma, determined by polyacrylamide gel electrophoresis.
J. Biol. Chem.
246: 3435-3443
- Hormonal effects in vitro on prostatic ribonucleic acid polymerase.
Biochem. J.
129: 1167-1169
- Dihydrotestosterone binding by androphilic proteins of the rat ventral prostate.
Fed. Proc.
28: 846
- Androgen receptors
J. Biol. Chem.
246: 16-24 (1971)
- Metabolism of testosterone by human prostate.
J.A.M.A.
183: 436-349
- Testosterone metabolism in the prostate.
Nat. Cancer Inst. Monogr.
12: 323-329
- Metabolism of 19-nortestosterone by human prostate.
Steroids
8: 825-844
- Uptake of plasma androgens by human benign hypertrophic prostate.
Invest. Urol.
8: 367-372
- Benign nodular Hyperplasia of the prostate: a review
Ann Roy. Coll. Surg. Engl.
14: 92-106

FREDERIKSEN, D.W.,
J.D. WILSON
(1971)

FUJII, T.,
C.A. VILLEE
(1968)

GELLER, J.,
R. BORA,
T. ROBERTS,
H. NEWMAN,
R. SILVA,
A. LIN
(1965)

GIORGI, E.P.,
J.C. STEWART,
J.K. GRANT
et al. (1971)

GLOYNA, R.E.,
J.D. WILSON
(1969)

GLOYNA, R.E.,
P.K. SIITERI,
J.D. WILSON
(1970)

HAHN, J.D.,
F. NEUMANN,
R. v. BERNSWORDT-WALLRABE
(1968)

HANSSON, V.

Partial characterization of the nuclear reduced
nicotinamide adenine dinucleotide phosphate:
⁴delta-3-ketosteroid 5 alpha-oxido-reductase
of rat prostate.
J. Biol. Chem.
246: 2584-2593

Effect of testosterone on ribonucleic acid meta-
bolism in the prostate, seminal vesicle, liver
and thymus of immature rats.
Endocrinol.
82: 463-467

Treatment of BPH with hydroxy-progesterone
caproate; effect on clinical symptoms, morpho-
logy and endocrine function.
J.A.M.A.
193: 121-128

Androgen dynamics in vitro in the normal and
hyperplastic human prostate glands.
Biochem. J.
123: 41-55

A comparative study of the conversion of
testosterone to 17 beta-hydroxy-5 alpha-
androstan-3-one (DHT) by prostate and epididymis.
J. Clin. Endocrinol.
29: 970-977

Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. II.
The formation and content of dihydrotestosterone
in the hypertrophic canine prostate and the effect
of dihydrotestosterone on prostate growth in the
dog.
J. Clin. Invest.
49: 1746-1753

Tierexperimentelle Untersuchungen mit 19-Nor-
17 alpha-hydroxy-progesteroncapronat im Hin-
blick auf eine mögliche therapeutische Anwen-
dung bei der Prostatahypertrophie.
Urologe
7: 208-214

Uptake and retention of testosterone and 5 alpha-
dihydrotestosterone by rat ventral prostate in vitro.
Acta Endocrinol.
68: 89-97

- HUGGINS, C.,
P.I. CLARK
(1940)
Quantitative studies of prostatic secretion.
II. The effect of castration and of estrogen injection on the normal and on the hyperplastic prostate glands of dogs.
J. Exptl. Med.
72: 747-761
- HUGGINS, C.
(1947)
The etiology of benign prostatic hypertrophy.
Bull NY Acad. Med.
23: 696-702
- KATO, T.,
R. HORTON
(1968)
Studies of testosterone binding globulin.
J. Clin. Endocrinol.
28: 1160-1168
- KLOSTERHALFEN, H.
(1966)
Behandlung der Prostatahypertrophie mit Hydroxyprogesteroncapronat.
DMW
91: 2138
- LASNITZKI, I.
(1955)
The effect of estrone alone and combined with 20-methylcholanthrene on mouse prostate gland grown in vitro.
Cancer Res.
14: 632-639
- LASNITZKI, I.
(1966)
The effect of estrogen, testosterone and hydrocortisone on the rat prostate gland grown in organ culture. Excerpta Med. Intern. Congr. Ser. 111: 323
- LASNITZKI, I.
(1971)
Uptake and metabolism of testosterone and action of testosterone metabolites on the rat ventral prostate gland grown in organ culture.
J. Endocrinol. 51: 7-8
- LIAO, S.,
S. FANG
(1969)
Receptor proteins for androgens and the mode of action of androgens on gene transcription in ventral prostate.
Vitam. Horm.
27: 17-90
- MANGAN, F.R.,
W.I.P. MAINWARING
(1971)
The possible influence of steroid-receptor complexes on the interaction of DNA and RNA polymerase.
Acta Endocrin.
Suppl. 155: 151
- MAINWARING, W.I.P.
(1969 a)
Asoluble androgen receptor in the cytoplasm of rat prostate.
J. Endocrinol.
45: 531-541
- MAINWARING, W.I.P.
(1969 b)
The binding of (1,2-³H)-testosterone within nuclei of the rat prostate.
J. Endocrinol.
44: 323-333

MERCIER, C.,
J.-P. CHANGEUX,
F. JACOB
(1963)

Specificity of a plasma testosterone-binding globulin.
Excerpta. Med. Intern. Congr. Ser.
111: 494

MOORE, R.A.
(1947)

Benign hypertrophy and carcinoma of the prostate.
in "Endocrinology of Neoplastic Disease".
(G.H. Twombly, G.T. Pack, eds.), Oxford Univ.
Press, New York, 1947, Kap. 8, S. 194-219

NEUMANN, F.,
H. STEINBECK
(1971)

Antiandrogene. Tierexperimentelle Grundlagen
und klin. Anwendungsmöglichkeiten.
Der Internist
12: 198-205

ORESTANO, F.
(1972)

In Vitro Untersuchungen über den Testosteron-
Metabolismus im Prostataadenom und -carcinom-
gewebe. Einfluß von Oestradiol-17 beta oder
Progesteron auf die Konversion von Testosteron
in Dihydrotestosteron.
Habilitationsschrift, Johannes Gutenberg-Univer-
sität Mainz, 1972

REISNER, R.M.,
G. SANSONE BAZZANO
(1972 a)

In vivo uptake and metabolism of testosterone-
1,2-³H by skin and accessory sex organ of the
male rat.
Clin. Res.
20: 213

REISNER, R.M.,
G. SANSONE BAZZANO
(1972 b)

In vivo uptake and metabolism of dihydrotesto-
sterone-³H in skin and accessory sex organs of
the rat.
Clin. Res.
20: 179

ROBEL, P.,
I. LASNITZKI,
E.E. BAULIEU
(1971)

Hormone metabolism and action: testosterone and
metabolites in prostate organ culture.
Biochim.
53: 81-87

ROY, A.K.,
P. ROBEL,
E.E. BAULIEU
(1972)

Hormone metabolism and action:
III. Metabolism of 3 alpha-OH and 3 beta-OH
C₁₉-Steroids in prostate organ culture.
Endocrinology
91: 404-408

SCHMIDT, H.,
I. NOACK,
K.D. VOIGT
(1972)

Metabolism and mode of action of androgens in
target tissues of male rats. II. Mode of action of
testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone at
a cellular level on seminal vesicles and prostate
of rats.
Acta Endocrinol.
69: 165-173

SHIMAZAKI, J.,
H. KURIHARA,
Y. ITO
et al. (1965 a)

SHIMAZAKI, J.,
H. KURIHARA,
Y. ITO
et al. (1965 b)

SHIMAZAKI, J.,
I. SATO,
H. NAGAI
et al. (1970)

SHIMAZAKI, J.,
T. HORAGUCHI,
Y. OHKI
et al. (1971)

SIITERI, P.K.,
J.D. WILSON
(1970)

SÖKELAND, J.,
B. OPELT,
M. BRESSEL
(1968)

SWYER, G.I.M.
(1944)

TALALAY, P.,
H.G. WILLIAMS-ASHMAN
(1960)

TVETER, K.J.,
A. AAKVAAG
(1969)

UNHJEM, O.,
K.J. TVETER,
A. AAKVAAG
(1969)

Metabolism of testosterone in the prostate
(2nd report). Separation of prostatic 17 beta-
ol-dehydrogenase and 5 alpha-reductase.
Gunma J. Med. Sci.
14: 326-333

Testosterone metabolism in prostate; formation
of androstan-17 beta-ol-3-one and androst-4-
ene-3,17-dione, and inhibitory effect of natural
and synthetic estrogens.
Gunma J. Med. Sci.
14: 313-325

Incorporation of testosterone and 5 alpha-dihy-
drotestosterone into rat ventral prostate in vivo.
Endocrinol. Japon
17: 453-458

Properties of testosterone 5 alpha-reductase of
purified nuclear fraction from ventral prostate
of rats.
Endocrinol. Japon 18: 179-187

Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy.
I. The formation and content of dihydrotesto-
sterone in the hypertrophic prostate of man.
J. Clin. Invest.
49: 1737-1745

Diagnostik und Indikation zur konservativen und
operativen Behandlung beim Prostata-Adenom.
Med. Welt
13: 795-801

Postnatal growth changes in the human prostate.
J. Anat.
78: 130-153

Participation of steroid hormones in the enzyma-
tic transfer of hydrogen.
Rec. Prog. Hormone Res.
16: 1-47

Uptake and metabolism in vivo of testosterone-
1,2-³H by accessory sex organs of male rats;
influence of some hormonal compounds.
Endocrinology
85: 683-689

Priliminary characterization of an androgen-
macromolecular complex from the rat ventral
prostate.
Acta Endocrinol.
62: 153-164

VAN DE WIELE, R.I.,
P.C. MC DONALD,
E. GURPIDE,
S. LIBERMAN
(1963)

VERMEULEN, A.,
T. STOICA,
L. VERDONCK
(1971)

VERMEULEN, A.
(1973)

WILSON, J.D.,
N. BRUCHOVSKY,
J.N. CHATFIELD
(1969)

WILSON, J.D.,
R.E. GLOYNA
(1970)

WOODRUFF, M.W.,
W.O. UMIKER
(1960)

WOTIZ, H.H.,
H.M. LEMON
(1954)

Studies on the secretions and interconversion of
the androgens.
Rec. Prog. Horm. Res.
14: 275-305

The apparent free testosterone concentration,
an index of androgenicity.
J. Clin. Endocrinol.
33: 759-767

Plasma levels of androgens and testicular abnor-
malities.
Acta Endocrinol.
Suppl. 177, Abstr. 389

Intranuclear localisation of testosterone-1,2-³H
in rat prostate. Progress in Endocrinology. Intern.
Congr. Ser. 184, proceedings of the 3rd interna-
tional congress of endocrinology.
Excerpta Med. Found. Amst. pp 17

The intranuclear metabolism of testosterone in
the accessory organs of reproduction.
Rec. Prog. Hormone Res.
26: 309-336

The effect of estrogen and androgen on the rat
prostate gland and testes.
J. Urol.
84: 162-166

Studies in steroid metabolism.
I. Metabolism of testosterone by human prostatic
tissue slices.
J. Biol. Chem.
206: 525-532

Für das Überlassen des Dissertationsthemas gilt Professor Dr. F. Orestano mein Dank.

Ich bedanke mich bei dem Referenten und den Mitarbeiterinnen des endokrinologischen Labors der Urologischen Universitätsklinik in Mainz, Fräulein H. Kuhlmann, Fräulein A. Schwabe und Herrn Dr. med. J.E. Altwein für ihren fachkundigen Rat.

Die stets kollegiale Zusammenarbeit mit meinem ehemaligen Kommilitonen, Herrn Dr. med. A. Rubin, war mir bei der Einarbeitung in die labortechnischen Arbeitsverfahren eine wertvolle Hilfe.

Über die freundlicherweise übernommene Durchsicht und Verbesserungsvorschläge von Fräulein cand. phil. Maria Zimmer habe ich mich gefreut und möchte mich an dieser Stelle dafür bedanken.

LEBENS LAUF

Ich, Albert A. Klein, wurde am 25.3.1948 in Aschbach/Saar als fünftes Kind meiner Eltern, des Sprengmeisters im Bergbau Josef Klein und seiner Ehefrau Anna Klein geb. Heinrich, geboren.

Nach fünf Grundschuljahren in meinem Heimatort wechselte ich zum Frühjahrstermin 1959 auf das Staatliche Realgymnasium Lebach, wo ich am 1. Juli 1967 meine Reifeprüfung bestand.

An den Universitäten in Saarbrücken und Mainz habe ich danach je ein Semester Naturwissenschaften mit der Hauptfachrichtung Biologie studiert, bevor ich im Wintersemester 1968/69 an der Johannes Gutenberg-Universität mit dem Studium der Humanmedizin begann.

Vor dem Prüfungsausschuß in Mainz habe ich am 4. Dezember 1974 die Ärztliche Prüfung bestanden. Nach der Fertigstellung meiner Dissertation werde ich ab dem 1. März 1975 in der Chirurgischen Universitätsklinik als Medizinalassistent arbeiten.

